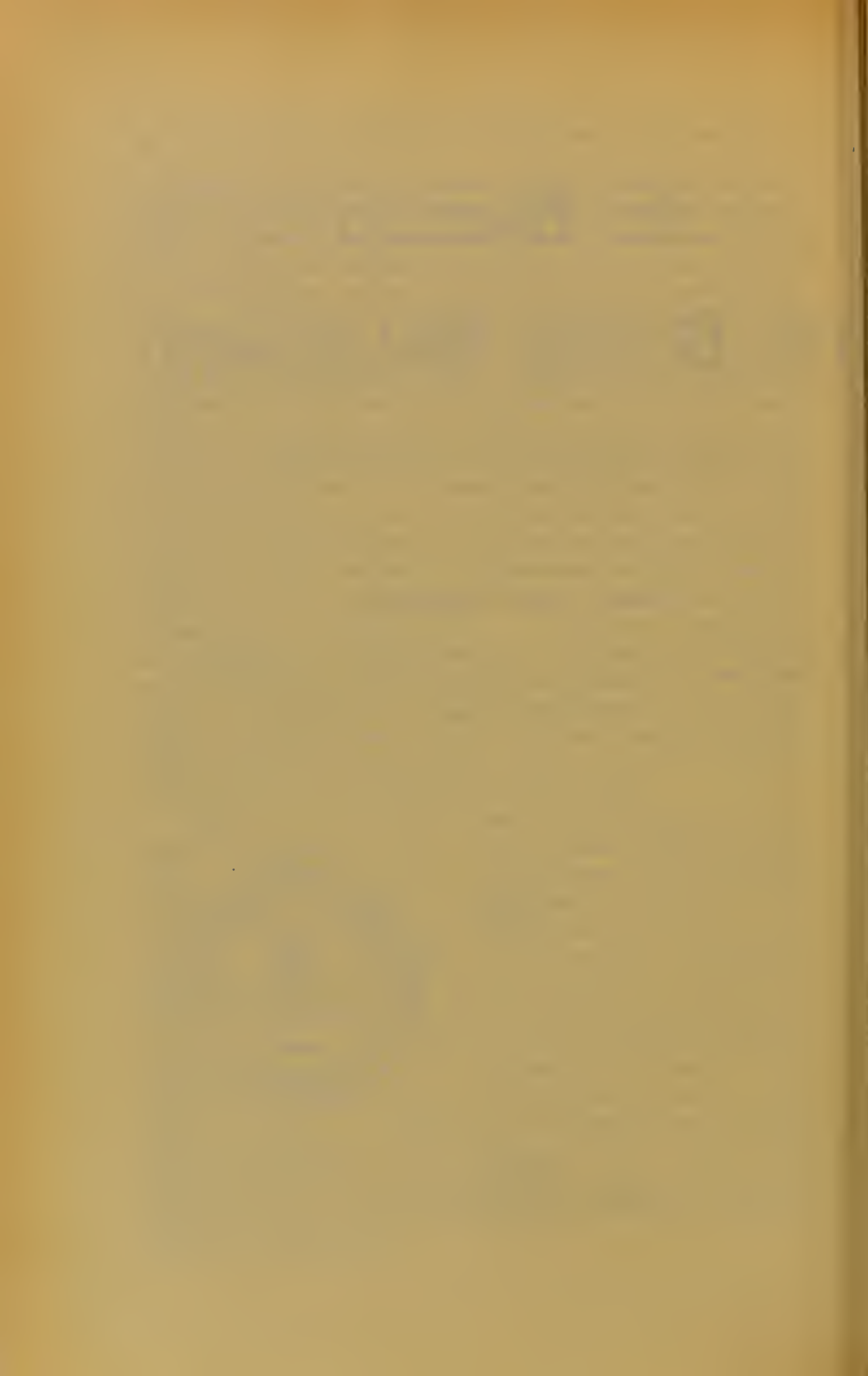
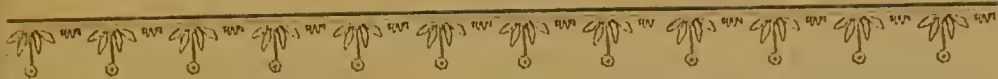
Il Bacillo del Boubas Brasiliano

RICERCHE BATTERIOLOGICHE

PEL

Dott. G. B. FIOCCO

Libero Docente di Dermosifilopatia - Primario Dermosifilopata dell' Ospitale Civile di Venezia

VENEZIA
OFFICINE GRAFICHE DI C. FERRARI
1904

IL BACILLO DEL BOUBAS BRASILIANO

RICERCHE BATTERIOLOGICHE

PEL DOTT. G. B. FIOCCO

Libero Docente di Dermosifilopatia - Primario Dermosifilopata dell'Ospitale civile di Venezia

---

Le numerose ricerche eseguite dal mio chiaro maestro professor Breda dal 1894 ad oggi intorno al granuloma brasiliano denominato Frambroesia brasiliana o Bouba dimostrano chiaramente l'esistenza di uno speciale bacillo entro al tessuto granulomatoso e definiscono completamente i caratteri clinici ed anatomo-patologici di questa dermatosi tropicale; solo non risolvono completamente la questione dell'eziologia non essendo riuscita la prova culturale (1).

---

(1) Questo granuloma dei tropici, da alcuni confuso col daws o Pian è oggi distinto clinicamente ed eziologicamente da questa forma. Nel suo recentissimo trattato " Cours de dermatologie exotique „ il Jeanselme così parla dei casi clinici osservati e descritti dal Breda. " Breda ha osservato sopra degli italiani i quali aveano dimorato nel Brasile *una malattia speciale, distinta dalla sifilide e dal Pian* alla quale egli dà il nome di framboesia brasiliana o bouba. È una malattia di assai lunga durata; la lesione iniziale è una bolla ovvero una pustola alla quale segue un'escara. Questa eliminandosi, lascia allo scoperto un'ulcera, a fondo grigiastro ed a granulazioni ipertrofiche, a bordi infiltrati tagliati a picco, notevolmente indolente e lentamente progrediente. — Le localizzazioni non si limitano alla pelle, ma occupano pure le mucose, la volta palatina, la retro bocca, la faringe, la laringe, la trachea; fin dai primi momenti la voce è notevolmente alterata. — La medicazione antisifilitica non riuscì di vantaggio, l'iniezione di tubercolina Koch non ha causato la reazione locale. *I caratteri dimostrano senz'altro che i casi studiati da Breda non si attaccano punto al Pian.*

Secondo il lavori del prof. Majocchi e del dott. Bosellini (comparsi fra il 1899 ed il 1901) il bacillo osservato dal Breda non sarebbe specifico, ma bensì quello dagli A. A. stessi osservato e descritto in un caso entro al tessuto. Di questo bacillo la prova culturale sarebbe riuscita, avendo essi ottenuto direttamente dal succo del granuloma, delle culture pure di uno speciale batterio, patogeno per gli animali, specie pel coniglio, nel quale riuscirono a produrre a seconda dei casi (cioè a seconda della maggiore o minore virulenza del bacillo e della massa bacillare iniettata), sia dei fenomeni esclusivamente locali (vescicolazione, necrosi, ulcerazione, da ultimo produzioni di cicatrici atrofiche e perforazioni del padiglione auricolare) ovvero dei gravi fenomeni infettivi generali a carattere setticemico (introducendo il bacillo per via sanguigna) con speciali localizzazioni entro al fegato. Nell' uomo l' innesto bacillare diede origine ad una infiammazione acuta locale, la quale dovette però essere rapidamente domata con impacchi antisettici: cosichè se alcuni fenomeni parvero agli A. A. corrispondere a quanto si osserva nel Boubas, pure nel complesso mancarono i caratteri essenziali al granuloma bene costituito.

Queste osservazioni non corrispondono alle esperienze eseguite dapprima dal professore Breda, e che vennero continuate poi e svolte più ampiamente dallo stesso mio Maestro in mia collaborazione in un recente lavoro dal quale risulta come da un numero considerevole di casi (14), non sia stato mai possibile ottenere direttamente, nè dal succo del granuloma, nè dal granuloma spappolato, la cultura del bacillo Majocchi-Bosellini, nè quella di un altro bacillo avente i caratteri morfologici del parassita esistente entro al tessuto umano. Risulta invece provato, da questi lavori, che il modo di comportarsi del tessuto del granuloma boubatico entro al coniglio è affatto speciale; poichè mentre si potrebbe dire, in tesi generale, che questo granuloma, come il Jaws, non è trasmissibile direttamente agli animali da laboratorio, non producendo esso lesioni locali permanenti e progressive, nè tanto meno infezioni generali: pure per il fatto che detto tessuto si riassorbe lentamente e dà luogo ad alcuni fenomeni reattivi nel punto dell' innesto (sia sotto cute che nella camera anteriore dell' occhio), appare che detto bacillo possiede una qualche pato-

genità, capace di risvegliare in sito una leggera infiammazione dei tessuti circostanti.

Questa temporanea reazione la si deve interpretare come prodotta da infezioni secondarie, attenuate, dei comuni parassiti, ovvero come una attività specifica del bacillo del Boubas, o solamente quale una reazione causata dalla diffusione di tossine bacillari dal tessuto granulomatoso entro a quello animale? La serie degli ultimi esperimenti raccolti nel lavoro sopra menzionato, ci fornisce dei dati positivi per poter valutare quale sia la causa vera di questi fatti; poichè dal materiale caseoide tolto in sei casi sopra otto, da conigli innestati con granuloma Boubatico, il controllo delle piastre e l'osservazione diretta microscopica diede i seguenti risultati:

a) Quattro conigli, piastre negative; negativo il controllo dell'innesto del materiale entro il peritoneo di altri conigli.

b) Due conigli, piastre positive: colture di piogeni.

Negli altri due conigli le ricerche batteriche non vennero eseguite direttamente, interessando seguire l'andamento naturale del processo; però non si osservarono ascessi e l'esame microscopico del tessuto esciso, non dimostrò la presenza di alcun volgare parassita. Quindi in non meno dei due terzi dei casi non esisteva alcuna infezione secondaria, mentre il processo presentava sempre lo stesso carattere evolutivo. Riassumendo le conclusioni di detto lavoro risulta: I. Che in molti casi il bacillo del Boubas si trova esclusivamente in seno al materiale di neoformazione ed al prodotto di degenerazione caseoide degli animali innestati con ogni cautela battereologica; II. Che il numero dei bacilli del Boubas, esistenti entro al materiale così ottenuto, è sempre maggiore di quello che si può riscontrare nel tessuto granulomatoso umano; III. Che nei casi in cui tardivamente si riscontrò essere avvenuta una infezione mista (assai evidente per i suoi caratteri infiammatori) i bacilli del Boubas esistevano sempre, però più o meno numerosi, fra i piogeni; IV. Che riuscirono vani tutti i tentativi per ottenere culture dirette del bacillo dal succo del tessuto Boubatico, come pure da pezzetti di granuloma o dal granuloma spappolato. Concludendo in tutti questi casi il bacillo del Boubas non riuscì coltivabile direttamente dal granuloma umano in alcuno dei comuni mezzi culturali, ma d'altra parte si dimostrò *che il bacillo*

poteva vivere temporaneamente e moltiplicarsi entro agli animali di esperimento.

Essendomi prefisso di tentare d'ottenere la cultura del bacillo del Boubas ho dovuto riconoscere essere necessario lasciare il facile metodo a cui ricorsero il prof. Majocchi ed il Bosellini, poichè questo non aveva dato alcun risultato nelle precedenti esperienze, per ricorrere invece a qualche speciale adattamento, capace di render maggior la resistenza del bacillo rispetto alla vita culturale.

Esaminando i diversi artificì ai quali si ricorre in battereologia per ottenere delle culture di alcuni parassiti obbligatori (i più difficili ad adattarsi all'ambiente esterno) questi consistono specialmente in modificazioni dei terreni culturali nell' anaerobiosi ecc. Questi però non potevano corrispondere nel caso attuale, poichè in precedenza tutti questi metodi erano stati tentati. Mi convenne quindi ricercare negli animali stessi di esperimento un mezzo di adattamento del bacillo all' ambiente esterno.

In molti casi un bacillo patogeno per l'uomo (parassita obbligatorio) non riesce virulento per l'animale pella immunità naturale di cui questi gode. D'ordinario si tratta di una attiva chemiotassi positiva la quale si risveglia subito dopo introdotto il bacillo e questa, assieme al potere battericida degli umori e del sangue arriva rapidamente a sbarazzare l'organismo dall'agente patogeno. Date queste circostanze per ottenere la patogenicità basta introdurre nell'organismo dell'animale sostanze capaci di neutralizzare il potere fagocitario ad es. acido lattico, alessine, sieri anticitasici od anti-complementari ovvero basta diminuire la resistenza (difesa) organica coll'inanizione, infezioni miste ecc. Questi metodi di adattamento od in altre parole questa sensibilizzazione dell' animale, la si compie di solito quando si possieda già una cultura pura (bacillo del Ducrey esp. del dottore Himmell, bacillo del tifo esp. del dott. Wassermann-Neisser e Veiel; questi ultimi la tentarono, però senza risultato, anche per la trasmissione della sifilide al porco). Nel caso attuale invece non si era riusciti ad ottenere in cultura il bacillo del Boubas, ma d'altra parte si era constatato essere egli capace di mantenersi in vita per un tempo più o meno lungo entro all'animale ed a moltiplicarsi temporaneamente. Ciò significa che il bacillo non risveglia una attiva fagocitosi e che il potere chemiotassico umorale e

sanguigno non è straordinariamente potente nel coniglio verso questo bacillo. La difesa organica si produce lentamente, man mano che il bacillo si moltiplica e solo dopo un tempo abbastanza lungo arriva ad arrestarne lo sviluppo: da questo momento comincia il periodo involuttivo del processo e degenerativo, con formazione di mater ale caseoide da un lato e colla spezzettatura del protoplasma bacillare e la morte di questo, dall' altro.

Date queste speciali condizioni di vita del parassita entro all'animale, era lecito pensare di poter riuscire ad adattare direttamente il bacillo alle nuove condizioni di ambiente e ciò tanto più perchè l'osservazione diretta aveva dimostrato che nell'animale (come del resto nell'uomo) il bacillo veniva assai difficilmente inglobato dai fagociti. La difesa dell'organismo animale deriva in tal caso dall'attività del tessuto stesso (difesa del connettivo pel connettivo-Charrin); il fatto dà perfetta spiegazione della lentezza con cui si svolge il processo, come pure della temporanea attività vitale del bacillo entro al tessuto.

In base a queste prime ricerche stabilii d'innestare il tessuto del Bubas nel coniglio e di toglierlo dall'animale dopo che erano passati alcuni giorni, cioè durante il periodo della reazione (per quanto leggiera) e ben prima di quello della degenerazione e dell'assorbimento; trasportare quindi detto materiale in un secondo animale, ripetendo la serie fino a che il bacillo avesse acquistato o uno speciale adattamento pel coniglio (così da divenir patogeno) ovvero fino a che, date le nuove condizioni di ambiente, si fosse adattato ad una vita saprofittica. Questo metodo non è nuovo in battereologia ed ha dato già favorevoli risultati sia per esaltare la virulenza dai bacilli (Pasteur-Metchnikoff-Salimbeni) quanto per ottenere la separazione fra diverse forme microbiche in ricerche assai delicate (Veillon).

Ricerche.

Il materiale di ricerca mi venne fornito da due casi tipici, l'uno dei quali degette nella clinica del prof. Breda nell'ultimo periodo del mio assistentato, l'altro si presentò a me quì a Venezia e proveniva pure dal Brasile, Stato di S. Paolo, provincia di Minas, e l'ammalato faceva ritorno nell'America del Sud dove aveva

famiglia, dopo un periodo di tempo passato in Italia ed in Austria. Ambedue i casi erano tipici però mentre quello della clinica di Padova presentava tutte le lesioni caratteristiche alla cute ed alle mucose ed era abbastanza cronico, l'altro invece non colpiva che le estremità ed era di data assai più recente ed inoltre presentava (per l'età del paziente, per la sua robusta costituzione e per la cura adeguata che aveva subito a Vienna, coi raggi X) un carattere regressivo assai marcato. Non interessa che io descriva particolarmente le lesioni cutanee di questi ammalati, mi basta solo ricordare che quest'ultimo Boubatico volle che venissero asportati due infiltrati ulcerati alla gamba sinistra i quali a lui recavano disturbo. Questo materiale assai prezioso mi servì naturalmente per ricerche microscopiche e battereologiche.

In ambo i casi i risultati ottenuti furono identici: conviene però notare che nel primo (clinica di Padova) il bacillo lo potei isolare da due lesioni, poste in regioni assai diverse (piede e gomito): nell'altro invece da una sola: si può quindi affermare che tre furono le conferme battereologiche e tutte corrispondenti perfettamente.

Non riferirò che molto sommariamente il metodo seguìto, limitandomi ad uno dei casi, poichè negli altri questo fu sempre mantenuto uguale. I risultati totali li presenterò in tabelle riassuntive.

Sopra l'infiltrato granulomatoso ed ulcerato del Boubas applicai per alcuni giorni un impacco di sublimato corrosivo 1/1000 allo scopo di eliminare quanto più fosse possibile la flora batterica di inquinamento. Dopo ciò, per quarantott'ore applicai un impacco con soluzione sterile e fisiologica di cloruro sodico. Preparato così il materiale, escisi abbondantemente l'ulcerazione a circa mezzo centimetro dai margini ed in tutto lo spessore fino al pannicolo adiposo sotto-cutaneo (naturalmente gli strumenti erano sterili e per la lavatura si usò soltanto soluzione sterile fisiologica). Ottenuto in toto il tessuto, questo lo divisi in tre parti le quali dovevano servire a tre ricerche diverse:

I. *Ricerca diretta del bacillo nel tessuto.*

II. *Ricerca diretta culturale dal siero e dal materiale granulomatoso.*

III. *Ricerche culturali indirette, adattando il bacillo attraverso agli animali.*

1°. Intorno al primo punto riferirò solo ciò che è relativo alla parte battereologica: entro al tessuto esistevano scarsi bacilli bene collorabili sia col metodo Majocchi-Bosellini sia colla fuxina acetica e decolorazione in soluzione allungatissima di acido acetico (metodo di Fridlaender). Il bacillo si presentava per lo più retto, talora leggermente ricurvo, qualche volta leggermente granuloso e misurava in media 0.3 - 0.4 per 1.5 - 2 μ non si colorava col metodo di Gramm nè con quello di Nicolle.

2°. Il liquido siero sanguinolento ottenuto dalla incisione del granuloma nella sua parte profonda venne abbondantemente disseminato in provette contenenti diversi mezzi culturali. Di queste alcune (una serie) venne distesa in capsule Petri, le altre invece vennero preparate per culture anaerobiche (metodo di Fraenkel) e tenute in stufa a temperatura fra 24 e 36 C°. I risultati ottenuti sono raccolti nelle seguenti tabelle.

Piastre disseminate col succo del granuloma Boubatico.

Gelatina semplice	Agar semplice	Agar glicerinato	Agar Gluc.	Agar Glic. mannit.
2 piastre	2 piastre	2 piastre	2 piastre	2 piastre
1 negativo	id.	id.	id.	id.
2 negativo	Aspergillus Viridis	negativo	id.	id.

Culture anaerobiche dal succo del granuloma Boubatico.

Gelatina semplice	Agar semplice	Agar glicerinato	Agar Gluc.	Agar Glic. mannit.
2 provette	id.	id.	id.	id.
1 negativo	id.	id.	id.	id.
2 negativo	id.	id.	id.	id.

Un pezzetto di tessuto venne spappolato e servì per disseminare diversi mezzi culturali. Il materiale venne tolto dalla parte profonda del granuloma, da quella parte ciò che si poteva presumere fosse più facilmente rimasta illesa da inquinamenti esterni.

Piastre dal tessuto granulomatoso spappolato.

Gelatina semplice	Agar semplice	Agar glicerinato	Agar Gluc.	Agar Glic. mannit.
2 provette	id.	id.	id.	id.
1 negativo	id.	id	id	id.
2 negativo	id	id.	id	id

Anche in questo caso si ebbe la conferma di quanto era già stato trovato precedentemente (Breda-Fiocco) che cioè il bacillo del Boubas non era riuscito coltivabile dal succo o dal tessuto stesso del granuloma, direttamente, nè come aerobio nè quale anaerobio. In questo caso poi la asepsi più accurata mi permise di constatare che il tessuto Boubatico non conteneva speciali germi infettivi (secondarii) i quali potessero dar luogo ad infiammazioni più o meno acute nel tessuto animale.

III.° Esperimenti animali - 1 coniglio.

12 novembre 1902 - Entro ad una tasca profonda incisa nella cute del dorso di un grosso coniglio introduco un pezzo di tessuto grande circa come un faginolo. La porta di entrata della ferita viene accuratamente cauterizzata con ferro rovente e quindi ricoperta con collodio jodoformico.

13 novembre 1902 - Leggero eritema nel punto dell' innesto - pezzetto del granuloma mobile - Condizioni dell' animale ottime.

14 novembre 1902 - Tessuto granulomatoso leggermente aderente al connettivo circostante - Leggera infiltrazione - Eritema - Condizioni generali ottime.

16 a 18 novembre 1902 - Il nodulo mantiene gli stessi caratteri. Condizioni generali buone.

19 novembre 1902 - Si incide (previa accurata disinfezione della regione) la cute sopra l' infiltrato e si mette allo scoperto il materiale granulomatoso. Questo si presenta di colore grigio roseo al centro e rosso alla periferia; il volume del tessuto è un po' maggiore di quello innestato. La consistenza al centro è diminuita: il tessuto è incrostato di un deposito fibrinoso. Il materiale raccolto entro ad una capsula Petri serve per il trasporto nell'animale, mentre che i detriti staccatisi ed il siero sanguinolento si fanno servire per culture; un piccolo brandello del tessuto viene staccato per ricerche dirette.

Esame microscopico.

Liquido siero ematico. - Leucociti polinucleati, qualche linfocita, numerose emazie. Scarsissimi bacilli retti o leggermente curvi d'aspetto simile al difterico, più piccoli però, a protoplasma

uniforme ovvero leggermente granuloso. Si colorano bene col metodo Majocchi-Bosellini o colla Thionina fenicata e col metodo di Fridlaender. Morfologicamente corrispondono a quelli del Boubas umano: non si colorano col Gram, si scolorano col metodo dei bacilli tubercolari.

Tessuto granulomatoso. - Numerosissime leucociti polinucleati, qualche linfocita, rarissime eosinofile, numerosissime emazie, qualche pezzetto di elemento elastico. Bacilli in numero scarso, corrispondenti perfettamente ai sopra indicati. Alcuni di questi presentano uno spazio centrale irregolare per forma e grandezza, di protoplasma scolorato, in tal caso il bacillo assume l'aspetto di un diplococco.

Piastre dal tessuto granulomatoso spappolato

Gelatina semplice	Agar semplice	Agar glicerinato	Agar Gluc.	Agar Glic. mannit.
2 piastre	id.	id.	id.	id.
1 negativo	id.	id.	id.	id.
2 negativo	id.	aspergillus glaucus	negativo	id.

Secondo Coniglio. - Il tessuto granulomatoso tolto dal primo animale lo trasporto entro ad una tasca aperta sopra il dorso del secondo animale.

20 novembre 1902 - Leggerissimo eritema nel punto d'innesto, condizioni generali buone.

21, 22, 23 novembre 1902 - Stessi fatti.

24 novembre 1902 - Il tessuto si è fissato al connettivo circostante: i fenomeni di irritazione cutanea sono scomparsi, si nota leggero ingrossamento nel volume del pezzo il quale è anche più pastoso; animale in buone condizioni.

26 novembre 1902 - Il nodulo è grosso come una fava, sporge sotto cute e questa è ricoperta da epidermide normale o leggerissimamente eritematosa e pitiriasica. Alla palpazione si rileva evidente pastosità del tessuto, manca però ogni segno di fluttuazione. Condizioni dell'animale buone.

Previa accurata disinfezione incido la cute, asporto il nodulo e lo raccolgo in una capsula sterile. Il tessuto è grosso quasi come una nocciola, rosso vivo alla periferia, grigio roseo al centro. Raccolgo il liquido siero sanguinolento che fuoriesce dalla superficie

per esame microscopico e culturale. Un piccolissimo pezzo tolto al centro serve per ricerche batteriche.

Esame microscopico.

Liquido siero ematico. - Leucociti polimorfi numerosi, numerosissime emazie, qualche linfocita. Col metodo di Gram non si colora alcun bacillo ma solo qualche granulo di forma diversa (disfacimento del tessuto). Col metodo Majocchi-Bosellini e con quello Fridlaender si distinguono i soliti bacilli simili al difterico, retti o leggermente ricurvi per lo più a protoplasma uniforme ovvero con qualche vacuolo centrale ovvero anche in totalità leggermente granulosi. Le misure del bacillo sono sempre 0.3 × -2.5. μ (media).

Tessuto granulomatoso. Gli stessi reperti bacillari.

Piastre dal tessuto granulomatoso spappolato:

Gelatina semplice	Agar semplice	Agar glicerinato	Agar Gluc.	Agar Glic. mannit.
2 piastre	id.	id.	id.	id.
1 negativo	id.	id.	id.	id.
2 negativo	id.	id.	id.	id.

Terzo Coniglio. - Il tessuto tolto dal secondo animale lo trasporto entro ad una larga tasca praticata sul dorso di un grosso coniglio.

27 novembre 1902 - Leggerissimo eritema al punto d'innesto; condizioni generali ottime.

28, 29 novembre 1902. - Stessi fatti.

30 novembre 1902 - Si osserva nodulo grosso come piccola avellana sporgente sotto cute; questa si mostra leggermente eritematosa e pitiriasica: alla palpazione si sente tessuto pastoso non fluttuante.

2 dicembre 1902 - Il tessuto è grosso come una media avellana, pastoso al tatto, non fluttuante, ricoperto di cute leggermente erimatosa. Condizioni dell'animale buone.

3 dicembre 1902 - Previa accurata disinfezione incido la cute e raccolgo sterilmente il materiale entro ad una capsula. Questo ha presso a poco il volume e la forma di una grossa avellana, si presenta molle. Al centro si trova materiale di aspetto ca-

seoide giallo-grigiastro, facilmente spappolabile, circondato da una capsula di tessuto grigio-roseo e questa a sua volta da un essudato formato da fibrina e sangue. Detto materiale serve per ricerche microscopiche e culturali.

Esame microscopico.

Liquido siero ematico. - Numerosissime emazie e leucociti polimorfi, qualche raro linfocita, più o meno degenerato. Discreto numero di bacilli colorabili coi soliti metodi Majocchi-Bosellini e Fridlaender: nessun bacillo colorabile al Gram. I bacilli del Boubas sono in questo tessuto più numerosi che negli altri esami e fra questi sono numerosi quelli a protoplasma omogeneo.

Tessuto granulomatoso. - Numerosissime leucociti in diverso periodo di degenerazione granulo grassa, alcuni linfociti bene conservati. Bacilli caratteristici più numerosi che negli altri preparati: abbondantemente rappresentanti i bacilli a protoplasma granuloso.

Piastre dal tessuto granulomatoso spappolato.

Gelatina semplice	Agar semplice	Agar glicerinato	Agar Gluc.	Agar Glic. mannit.
3 piastre	id.	id.	id.	id.
1 negativo	id.	id.	id.	Colonie al 3 giorno bac. -- Boubatico-
2 negativo	id.	id.	id.	Stesso sviluppo
3 negativo	id.	id.	id.	Colonie più numer.

Piastre del materiale caseoide del granuloma.

Gelatina semplice	Agar semplice	Agar glicerinato	Agar Gluc.	Agar Glic. mannit.
3 piastre	id.	id.	id.	id.
1 negativo	id.	4 giorno minime colonie	negativo	3 giorno colonie minime
2 negativo	id.	subito morte	negativo	bacillo uguale
3 negativo	id.	—	negativo	quello Boubas

Prima di passare alla descrizione dei caratteri speciali di questo bacillo osservo come la moltiplicazione culturale non fu possibile ad aversi se non al momento in cui il materiale granulomatoso aveva caratteri completamente degenerativi cioè allorquando presumibilmente anche la nutrizione era difficultata, fatto questo confermato dalle degenerazioni esistenti nel protoplasma bacillare.

Collo stesso materiale granulomatoso furono tentate contemporaneamente altre tre serie di esperimenti e due serie furono

poi ripetute con un pezzo di granuloma non ulcerato tolto dal gomito dello stesso individuo: due serie ancora furono tentate con il pezzo tolto al secondo Boubatico. I risultati confermanti le ricerche per amore di brevità li raccolgo ora in tabelle schematiche che valgono però a porre sott' occhio il completo risultato ottenuto. (*Vedi tabelle* I. II. III. IV.).

In conclusione otto tentativi diedero sei risultati positivi. In soli due casi il bacillo del Boubas non si sviluppò e ciò allorquando si erano moltiplicati degli streptococchi e degli stafilococchi in tal numero da uccidere il bacillo del granuloma. Negli altri sei tentativi solo in tre casi lo sviluppo del bacillo del Boubas si ottenne puro da ogni contaminazione di parassiti secondari: negli altri tutti il bacillo si accompagnava ad altri parassiti o saprofiti e ciò basta a dimostrare una discreta forza di resistenza di questo parassita alle infezioni secondarie.

Caratteri morfologici del bacillo del Boubas.

Bacillo piccolo. esile, di aspetto un po' simile a quello della difterite. Il protoplasma di questo bacillo in giovani culture, si presenta omogeneo, ma con ogni facilità, sia per invecchiamento che per le difficoltà opposte dalla sua esigenza culturale, presenta dei fatti degenerativi nel protoplasma, i quali vanno dalla formazione di un vacuolo centrale talora assai piccolo, tal' altra più grande ed irregolare, allo spezzettamento del protoplasma in granuli, così da derivarne un aspetto simile al bacillo tubercolare a corona di rosario od al coccotrix Leprae. La forma del bacillo è per lo più retta o leggermente ricurva e presenta l'estremità leggermente arrotondate. La grandezza media di questo è di 0.3 a 0.4 in larghezza e di 0.8 a 2.5 μ in lunghezza. Detto bacillo osservato in goccia pendente si presenta immobile; colle colorazioni specifiche i vacuoli sopra descritti esistenti nel protoplasma non presentano i caratteri delle spore.

Il metodo di Gram non colora questo bacillo: solo in culture assai vecchie si notano colorati quì e colà alcuni granuli del residuo protoplasmatico degenerato. Il metodo di Nicolle non colora il bacillo. I comuni colori basici di anilina lo colorano, però im-

perfettamente: la colorazione ottima si può ottenerla a mezzo della fuxina acetica, dello Ziehl, della Thionina fenicata. Colorato intensamente ed a lungo con questi mezzi il bacillo resiste abbastanza bene all'azione degli acidi vegetali (ac. lattico ac. acetico) diluiti (1-2 %). Col metodo di Unna alla pironina verde di metile fenicato (modificazione del metodo di Papeunheim) il bacillo si colora discretamente in rosso mattone sporco. Detto bacillo si presenta per lo più isolato ovvero a due o tre elementi: coltivato in substrati liquidi (liquido ascitico) si raccoglie spesso in corte catenule di 3-5 elementi.

Caratteri culturali.

Agar semplice a 37. — *Per strisciamento.* Lo sviluppo delle colonie non compare mai prima di tre giorni: al quarto ed al quinto si osserva sopra la superficie d'innesto una iridescenza: la colonia non acquista mai caratteri più spiccati e muore rapidissimamente. Il trapianto in altro Agar semplice non dà luogo che ad alcune rare culture e la morte dell'elemento si ha fra il terzo ed il quarto trapianto.

Per infissione. Lungo il canale d'infissione non si nota alcun sviluppo.

Agar glicerinato 37. — *Per strisciamento.* Già dopo 48 ore si nota un tenue velo iridescente il quale dopo tre giorni assume l'aspetto di colonie rotonde, esili trasparenti. Lo sviluppo aumenta per alcuni giorni; in tale menstruo non si riesce però ad ottenere uno sviluppo assai evidente.

Per infissione. Non si nota alcun sviluppo lungo il canale d'infissione.

Agar acido 37. — *Per strisciamento.* Nessun sviluppo di colonie.

Per infissione. Nessun sviluppo di colonie.

Agar glicero-glucosato 37. — *Per strisciamento.* Dopo 48 ore appare una iridescenza sopra tutta la superficie dell'agar: la forma definita delle colonie non si può vedere ad occhio nudo che verso il terzo giorno. In tal momento si apprezza sopra la superficie quasi l'aspetto di una rugiada, data da colonie minime vitree, le quali aumentano fra il terzo ed il decimo giorno in cui

raggiungono il massimo volume e si presentano allora come dei piccolissimi punti bianco-vitrei e margini rotondi; solo tardivamente questi appaiono alquanto sfrangiati: il massimo volume di una colonia è circa una metà di un grano di miglio. Dette colonie sono sempre superficialissime, sul fondo della provetta entro al liquido di condensazione si forma un sedimento esile di colore bianco-cereo, granuloso, mucoide, dato da piccole colonie sviluppatesi.

Per infissione. Lungo il canale si nota un minimo velo, il quale appare verso la terza giornata, ma non arriva mai (tranne che alla superficie dove dà luogo alla formazione di un punto bianco-vitreo) a rendersi assai evidente cosicchè non sono mai riuscito a specificare delle colonie lungo questo canale di infissione.

Agar glicero mannitato 2 $^{0}/_{0}$ 37. Lo sviluppo entro a questo substrato è il più rigoglioso e tipico.

Piastre. Dopo due giorni appare un disseminio di colonie trasparentissime, lucenti, rifrangenti, vitree. Lo sviluppo è completo verso il sesto giorno ed allora dette colonie si presentano rotonde a margini abbastanza regolari o solo leggerissimamente sfrangiati, piccole assai, poichè in nessun caso ho mai visto che raggiungessero la grandezza di un grano di miglio; queste sono appena sollevate dalla superficie della piastra, translucide, leggermente iridescenti. Al microscopio si vedono, a piccolo ingrandimento, come dei punti rotondi biancastri a margini netti o leggerissimamente seghettati con la periferia più oscura del centro; ad ingrandimento maggiore le colonie appaiono leggerissimamente ombelicate e leggermente granulose. Toccando la superficie delle colonie con l'ansa di platino si arriva a stento a staccare il materiale per il carattere mucoide delle stesse.

Per strisciamento. Nei primi momenti (cioè appena ricavato il bacillo dal coniglio) lo sviluppo delle colonie è rigoglioso, poi mano a mano si fa sempre più stentato e meno appariscente. Col materiale recentemente ottenuto strisciando sopra la superficie si osserva dopo due giorni la comparsa di piccole colonie vitree le quali si riuniscono fra di loro in alcuni punti a formare delle piccole masse mucoide *girate* leggermente rialzate dalla superficie dell'Agar sempre trasparenti, vitree, od al più grigio-biancastre. Nel fondo delle provette, nell'acqua di condensazione, si raccoglie un deposito bianco-grigiastro tenue, mucoso.

Nelle culture ottenute con materiale non più recente il loro tipo ricorda completamente quello delle culture in piastre; sono cioè delle colonie vitree assai piccole, talora leggermente grigiastre iridescenti, rotonde a margini regolari. Il materiale delle culture è mucoide filamentoso, difficile a staccarsi dalla superficie dell'Agar. Per quanto queste culture invecchino non danno mai luogo a sviluppo di pigmento.

Per infissione. Non si nota uno sviluppo apprezzabile che al terzo giorno: il massimo (di questo) lo si ha verso il sesto o l'ottavo. Lungo tutto il canale di infissione si vede una nubecola biancastra centrale, fiancheggiata da minimi granuli grigiastri, costituiti da colonie laterali. Verso la superficie lo sviluppo è maggiore, e massimo al di sopra, dove si ha un piccolo punto bianco grigiastro leggermente sporgente. Anche in questo caso per quanto dette culture invecchino, non si ha mai la formazione di pigmento.

Siero di sangue a 37. — Sopra il siero di sangue di bue coagulato a becco di clarinetto dopo due giorni si nota l'inizio dello sviluppo, il quale raggiunge il suo massimo verso il settimo. In tale epoca la cultura è caratterizzata da una specie di vernice vitrea, sparsa sopra la superficie del siero, (nei punti ove venne deposto il materiale), vernice data dal confluire di numerose colonie esili rotonde, le quali lontanamente possono ricordare quelle del bacillo difterico, ma di queste sono assai più piccole.

Liquido asciti o e di idrocele a 37. — Anche in questo caso intercorre una differenza fra le culture ottenute con materiale ricavato di recente dal coniglio e quelle ottenute da bacilli più vecchi. Nel primo caso dopo tre o quattro giorni dalla disseminagione si vede formarsi sulla superficie del liquido lungo i margini della provetta, un piccolo velo trasparente e fra il sesto ed ottavo delle piccole colonie mucoidi, aderenti sempre alle pareti. Una piccola quantità di materiale mucoide si raccoglie pure al fondo del liquido il quale si mantiene perfettamente limpido o solo leggermente opalescente invecchiando. Tentando di raccogliere la cultura con un ago di platino si nota che il meteriale è viscido filamentoso. — Nei trapianti fatti con vecchie colture non si osserva altro che un leggero o leggerissimo intorbidamento uniforme, scuotendo il liquido si vede però qualche granulo che s'innalza dal

fondo. I bacteri si sviluppano nella totalità del liquido in numero assai scarso.

Gelatina a 24. — In nessun caso si potè ottenere sviluppo di colonie.

Patate a 37. — Non solo non esiste alcun sviluppo appariscente, ma sopra la superficie anche dopo un periodo di tempo abbastanza lungo l'esame microscopico non dimostra l'esistenza di elementi bacillari.

Brodo di carne alcalino a 37. — Il brodo si mantiene limpido, anche dopo l'introduzione di grandi quantità di bacilli. All'esame microscopico nei primi giorni se ne trova qualcuno ma questi poi scompaiono del tutto.

Brodo di carne glicero-glucosato a 37. — Nessun intorbidamento del menstruo. Al fondo si raccoglie qualche colonia d'aspetto polverulento scarsamente vitale.

Latte a 37. — Non si ottiene alcun sviluppo nè coagulazione.

Caratteri vitali del bacillo del Boubas.

Già dalle prime esperienze mi era risultato che il bacillo da me ottenuto dal granuloma bonbatico presentava speciali esigenze vitali. Esso infatti aveva bisogno di una temperatura costante che poteva oscillare fra 36 e 38; poteva resistere solo per qualche ora ad una temperatura fra 39 e 40 e moriva indubbiamente anche se tenuto per non lungo tempo ad una temperatura inferiore ai 20. Detto bacillo non poteva svilupparsi sopra le patate, nella gelatina, nel brodo semplice e nel latte. Quello però che interessa di più, per dimostrare le esigenze di questo bacillo, si è che anche coltivato nei menstrui più adatti al suo sviluppo, quali l'Agar glicero-glucosato e glicero-mannitato, nei trapianti in serie esso andava rapidamente perdendo della sua vitalità. Così fra il sesto e l'ottavo trapianto le colonie non si rendevano appariscenti che fra il quarto ed il sesto giorno ed anche dopo otto o dieci giorni non apparivano che come una polvere iridescente distesa sulla superficie dell'Agar. — Per mantenere la vitalità del bacillo dovetti ricorrere al passaggio attraverso gli animali, introducendolo sotto cute o nel peritoneo sia direttamente sia in capsule di ce-

loidina e ritirandolo poi come si fa pel bacillo difterico quando si vuole esaltarne la virulenza. In tal modo il bacillo riprendeva la sua vitalità ed i suoi caratteri e poteva mantenersi in vita.

Ai fatti degenerativi culturali, ho trovato *corrispondere* nel bacillo stesso una facile degenerazione del protoplasma, di modo che mentre nelle culture vitali il bacillo con protoplasma omogeneo costituiva l'assoluta maggioranza o la totalità, in un preparato microscopico, nelle colture tardive invece il numero di questi è uguagliato od anche superato da quelli a protoplasma granuloso. Nelle culture assai vecchie e povere a sviluppo tardivo, alcuni preparati colorati con metodi opportuni si presentano i bacilli sotto forma di piccole catenule di granuli alquanto irregolari (tipo coccotrix).

Un metodo il quale dà dei buoni risultati per ridonare al bacillo la vitalità in parte spenta, consiste nel distendere sopra l'Agar un sottilissimo velo di sangue umano come si fa per ottenere colonie di bacilli assai delicati quali il gonococco, il bacillo del Ducrey.

Concludendo.

Rimane assodato da queste ricerche che il tessuto del granuloma Boubatico non è patogeno per gli animali da gabinetto, in quanto che non causa mai la morte di questi, ma che egli si comporta press'a poco come il tessuto ed i prodotti di secrezione di granulomi a questo simili, quale il Jaws:

che nel coniglio si ottiene, localmente nei punti d'innesto diretto, una infiammazione assai lenta la quale si mantiene per un periodo di tempo non molto lungo;

che i trapianti successivi del materiale Boubatico da coniglio a coniglio mi hanno permesso d adattare il bacillo alla vita saprofitica, onde mi fu possibile avere delle culture;

che il bacillo coltivato presenta caratteri di forma e di grandezza corrispondenti a quelli del bacillo esistente nel granuloma umano;

che detto bacillo è assai delicato ed ha grandi esigenze vitali e tendenza ad estinguersi nelle culture in serie; fatto questo che si accompagna a delle degenerazioni assai manifeste nel protoplasma bacillare.

Il prof. Majocchi ed il dott. Bosellini hanno pure ottenuto un bacillo che ritengono specifico del Boubas, questo però differisce nel fatto che non presenta alcuna esigenza culturale e fu possibile ottenerlo direttamente e facilmente dal granuloma. In gran parte i caratteri morfologici e quelli biologici del primo bacillo non corrispondono a quelli dell'altro da me isolato e ciò non solo nell'aspetto delle culture, ma anche perchè io non vidi mai elaborarsi del pigmento. In ogni modo dalle mie ricerche non solo risulta la possibilità di ottenere in cultura un bacillo uguale a quello riscontrato nel granuloma umano ma ancora poi nel mio caso questo riscontro batterico l'ho potuto ottenere in parecchie esperienze da diversi individui.

II. SERIE

Fenomeni osservati nei conigli	Ricerche culturali	Esame batteriologico
1. Coniglio dopo 1 giorno eritema leggero „ 2 „ „ „ „ 3 „ nodulo apparisceente „ 4 „ stazionario „ 5 „ „ „ 6 „ incisione. Culture, innesti.	negativo	si trova solo bacillo uguale a quello esistente nel granuloma boubatico umano di 0.3 - 1 a 2.5
2. Coniglio dopo 1 giorno eritema „ 2 „ „ „ 3 „ nodulo apparisceente e pastoso „ 4 „ stessi fatti. Incisione Materiale caseoide. Culture.	negativo	stesso bacillo
3. Coniglio dopo 1 giorno eritema „ 2 „ noduli apparisceenti „ 3 „ eritema nodulo manifesto pastoso. Incisione materiale caseoide culture.	positive in 3. giornata su Agar glicero mannitato esili colonie bacillo uguale quello tessuto umano.	stesso bacillo

III. SERIE

Fenomeni osservati nei conigli	Ricerche culturali	Esame batteriologico
1. Coniglio dopo 1 giorno eritema „ 2 „ „ „ 3 „ „ „ 4 „ nodulo aumentato „ 5 „ incisione, materiale non caesoso, culture, innesto coniglio	rare esili culture di uno streptococco	alcuni cocchi (Gram) a catenule di 2-3 elementi, bacillo del Boubas
2. Coniglio dopo 1 giorno eritema vivo „ 2 „ grosso nodo eritema vivo „ 3 „ infiammazione viva „ 4 „ ascesso iniziale, culture, innesti	numerose culture di streptococchi	streptococchi, bacillo del Boubas
3. Coniglio dopo 1 giorno eritema vivo „ 2 „ „ infiammazione, pastosità „ 3 „ nodo grosso a carattere infiammatorio, tessuto caseoide, culture.	culture di streptococco, 5 colonie tipiche del bacillo del Boubas	streptococco, bacillo del Boubas

IV. SERIE

Fenomeni osservati nei conigli	Ricerche culturali	Esame batteriologico
1. C niglio dopo 1 giorno - Infiamazione „ 2 „ Reazione vivissima „ 3 „ Infiamazione „ 4 „ Ascesso al dorso Morte dell'animale per piemia.	culture di streptococco-Fluorescens putidus	streptococchi, grossi bacilli rarissimi bacilli del Boubas

I. SERIE (a

Fenomeni osservati nei conigli	Ricerche culturali	Esame batteriologico
1. Coniglio dopo 1 giorno eritema „ 2 „ „ „ 3 „ leggera reazione „ 4 „ stessi fatti, nodulo più ingrossato „ 5 „ id id „ 6 „ incisione, culture, innesti	negativo	si trova solo bacillo avente caratteri morfologici del bacillo del Boubas umano
2. Coniglio dopo 1 giorno eritema „ 2 „ leggera reazione locale „ 3 „ reazione evidente, nodo ingrossato „ 4 „ incisione, culture, innesti	alcune colonne di piogeno aureo	qualche gruppo di cocchi colorabili col Gram, discreto numero di bacilli del Boubas
3. Coniglio dopo 1 giorno eritema „ 2 „ nodulo ingrossato, pastoso infiammato „ 3 „ pastosità marcata, incisione, culture	numerose colonie di piogeno aureo, alcune tipiche di bacillo del Boubas	stessi fatti che nel precedente

II. SERIE (*a*

Fenomeni osservati nei conigli	Ricerche culturali	Esame batteriologico
1. Coniglio dopo 1 giorno eritema „ 2 „ leggera reazione „ 3 „ discreta reaz.[e] „ 4 „ reaz.[e] evidente, nodulo ingrossato „ 5 „ incisione, culture, innesti	qualche colonna di piogeno aureo	Cocchi a gruppi colorabili col Gram, qualche raro bacillo del Boubas
2. Coniglio dopo 1 giorno vivo eritema „ 2 „ discreta reazione, nodulo evidente „ 3 „ reazione viva „ 4 „ incisione, culture, innesti	numerose colonie di piogeno aureo	stessi fatti che nel precedente
3. Coniglio dopo 1 giorno reazione viva „ 2 „ reazione vivissima, ascesso „ 3 „ incisione, pus abbondante	piogeno aureo, nessuna cultura di bacillo del Boubas	cocchi numerosissimi

I. SERIE (b

Fenomeni osservati nei conigli	Ricerche culturali	Esame batteriologico
1. Coniglio dopo 1 giorno eritema " 2 " " " 3 " " " 4 " nodulo aumentato " 5 " id id " 6 " incisione, culture, innesti	negativo	scarso numero di bacilli del Boubas
2. Coniglio dopo 1 giorno eritema " 2 " " " 3 " leggero aumento del nodulo " 4 " id id " 5 " incisione, culture, innesti	negativo	stessi fatti
3. Coniglio dopo 1 giorno eritema " 2 " " " 3 " " " 4 " nodulo ingrossato " 5 " incisione, culture	si sviluppano scarse però tipiche e vitali colonie del bacillo del Boubas	bacillo del Boubas sempre scarso

II. SERIE (*b*

Fenomeni osservati nei conigli	Ricerche culturali	Esame batteriologico
1. Coniglio dopo 1 giorno eritema „ 2 „ „ „ 3 „ leggera reazione „ 4 „ nodulo più appariscente „ 5 „ id id „ 6 „ incisione, culture, innesti	negativo	scarso numero di bacilli del Boubas
2. Coniglio dopo 1 giorno reazione discreta „ 2 „ reazione più viva „ 3 „ „ „ „ „ 4 „ incisione, culture, innesti	negativo	stessi fatti
3. Coniglio dopo 1 giorno leggera reazione „ 2 „ reazione discreta „ 3 „ reazione viva „ 4 „ incisione, culture	qualche colonia di piogeno aureo, colonie tipiche di bacilli del Boubas in numero scarso	stessi fatti

Esperienze sopra gli animali.

Non meno importanti delle ricerche morfologiche intorno al bacillo, sono quelle sperimentali sopra gli animali da laboratorio, anche per il fatto che queste avrebbero potuto confermare o meno l' esistenza di caratteri comuni fra il bacillo isolato dal Prof. Majocchi-Bosellini, e quello da me ottenuto.

Gli animali usati furono i conigli, cavie, topi bianchi. Per il modo di reagire i più sensibili si dimostrarono i conigli, quindi i topi bianchi, meno di tutti le cavie.

Le esperienze compiute possono essere divise in:

a) ricerche intorno all' azione del Bacillo del Boubas nel connettivo sottocutaneo;

b) azione del bacillo iniettato nella cavità peritonale;

c) azione del bacillo iniettato nell' albero circolatorio.

a) *Azione dell' innesto del bacillo del Boubas nel connettivo sottocutaneo del coniglio.*

Quale sede di esperimento ho scelto, in molti casi, la cute del lato esterno del padiglione auricolare, poichè in questa regione si possono seguire facilmente de visu et de tactu i cangiamenti che avvengono nel tessuto.

I. **Coniglio maschio** del peso di gr. 1650.

Inietto una cultura pura di 16 giorni, bene sviluppata e sciolta in brodo.

Dopo un giorno si nota un leggero eritema e pastosità della cute per circa un centim. nel punto dell' innesto. Le condizioni generali del coniglio si mantengono buone.

Dopo due giorni edema ed eritema abbastanza marcati. Al centro si palpa un nodulo duro, grosso come un pisello. Dopo quattro giorni si nota la scomparsa dell' edema e dell' eritema: il nodulo centrale si è ingrossato manifestamente: è ancora libero nel connettivo.

Dal quinto al decimo giorno il nodulo continua la sua evoluzione progressiva; ha raggiunto il volume di una fava; forma leggermente oblunga. Visto per trasparenza non appare che una

leggerissima reazione infiammatoria nei tessuti circostanti. La cute soprastante al nodulo ha assunto aderenza leggera con questo.

Fra l' undecimo ed il quindicesimo giorno il nodulo si mantiene pressochè stazionario, va però aumentando l' aderenza di questo coll' epidermide, ed il tessuto al centro mostra una leggera pastosità.

Al diciottesimo giorno il nodulo si apre spontaneamente, dando uscita ad un materiale caseoide: il fondo della ulcerazione è formato da materiale caseoide necrotico e quest' ultimo si spinge profondamente contro la cartilagine.

Nella superficie interna dell' orecchio, la cute si presenta arrossata. Al ventunesimo giorno il cencio necrotico si stacca e ne residua una ulcera perforante l' orecchio, a margini ancora necrotici. Solo al trentatreesimo giorno l' ulcera si è rimarginata completamente.

Esame microscopico del materiale caseoide del nodulo.

Numerosissimi leucociti polimorfi degenerati.
Discreto numero di linfociti.
Alcune cellule eosinofile.
Granuli diversi di tessuto necrotico.
Qualche emazia.
Colorazione col Gram. Non si notano parassiti.
Colorazione colla Thionina fenicata e col metodo Fridlaender. Si colora un discreto numero di bacilli uguali a quelli delle culture; alcuni di questi sono a protoplasma granuloso, altri a protoplasma uniforme.

Non in tutti i casi il quadro è rappresentato dai leggeri fatti reattivi iniziali, dalla costituzione del nodulo, della sua fusione ed eliminazione all' esterno di materiale caseoide. In molti altri (specie se le culture sono un po' vecchie), lo sviluppo del nodulo avviene regolarmente fra il 15° e 18° giorno, dopo di che, senza fusione di questo, si inizia un lento riassorbimento, il quale si completa in circa 40 giorni.

II. - **Coniglio maschio** *del peso di 1650 gr.* - Innesti nell' orecchio di cultura recente.

Fenomeni generali: L'animale non presentò nè febbre nè deperimento organico.

Fatti locali: In circa 12 giorni si costituì nodulo leggermente pastoso, il quale raggiunse il volume di una fava. Non si ebbero fenomeni acuti infiammatori locali.

Esito ultimo del nodulo: Dopo il 12° giorno avvengono aderenza del nodulo alla cute e rammollimento il quale progredisce fino al 18° giorno. Esito: ulcerazione, con eliminazione di materiale caseoide bacillare e perforazione dell'orecchio.

Durata del processo fino a completa guarigione: La cicatrizzazione non si ebbe che dopo quaranta giorni.

III. - **Coniglio maschio** *del peso di 1530 gr.* - Innesto nell' orecchio di cultura recente.

Fenomeni generali: Leggero deperimento organico; il peso dell'animale scese fino a 1380 gr.

Fatti locali: In 13 giorni nel punto d'innesto si formò nodulo duro grosso quanto una noccinola. Nessun fatto infiammatorio acuto.

Esito ultimo del nodulo: Dopo il 13° giorno eritema leggero epidermico - al 15° inizia aderenza del nodulo e leggera fusione centrale - al 22° giorno il nodo ulcera, lasciando uscire materiale caseoide bacillare - Residua ulcera atonica coperta di materiale gangrenoso.

Durata del processo: La guarigione è completa al 42° giorno.

IV. - **Coniglio femmina** *del peso di 1475 gr.* - Innesto sul dorso di cultura recente.

Fenomeni generali: Non febbre, leggero deperimento organico; il peso dell' animale scende fino a 1285 gr.

Fatti locali: In dieci giorni al dorso si forma nodulo grosso come nociuola, duro, indolente, ricoperto da cute normale. Nessun fenomeno acuto infiammatorio.

Esito ultimo dell' infiltrato: Dopo il 10° giorno si nota eritema cutaneo; si va stabilendo aderenza coi tessuti circostanti: al 13° giorno comincia fusione centrale; verso il 22° giorno il nodo si ulcera, lasciando una ulcera interessante tutto il

derma, a fondo grigio, secco, imbutiforme e margini assai duri. Materiale eliminato di aspetto caseoide-bacillare.

Durata del processo: L'eliminazione dell'escara si compie lentamente; l'animale non guarì che al 48° giorno.

V. - **Coniglio maschio** *del peso di 1460 gr.* - Innesto sul dorso in due punti simmetrici, con cultura recente.

Fenomeni generali: Non febbre, non deperimento organico.

Fatti locali: Dopo 12 giorni si sono formati due noduli come ciliegia, duri, indolenti; ricoperti di cute sana.

Esito ultimo dell'infiltrato: Dopo il 12° nell'uno, dopo il 14° nell'altro si nota eritema cutaneo, aderenza dei noduli. Due giorni più tardi si perceppisce inizio di fusione. Questi dopo circa un mese sono completamente rammolliti e si ulcerano lasciando uscire materiale caseoide bacillare. Dei due infiltrati non si elimina che circa un terzo, il resto non degenera, rimane anzi duro.

Durata del processo: Il nodo completamente fuso guarisce in circa 35 giorni. L'infiltrato dell'altro invece non si è ancora completamente riassorbito dopo 2 mesi (in questo momento escido il nodulo per esame microscopico).

VI. - **Coniglio femmina** *del peso di 1350 gr.* - Innesto sul padiglione auricolare, con cultura abbastanza recente (15 dì).

Fenomeni generali: Non si ebbe deperimento organico, anzi l'animale aumentò in peso fino a 1480 gr.; non febbre.

Fatti locali: Dopo 15 giorni si trova costituito nodulo grosso quanto una fava, leggermente schiacciato, duro, indolente, ricoperto di cute sana.

Esito ultimo del processo: Al 20° giorno si stabilisce aderenza colla cute e si nota leggera infiammazione tanto della cute al lato esterno (lato della iniezione) quanto di quella del lato interno. Al 26° giorno dopo fusione, si apre il nodo e dà origine ad un ulcera a fondo necrotico. Dopo tre giorni, eliminatosi questo materiale, risulta una ulcera perforante tutto lo spessore dell'orecchio.

Durata del processo: La guarigione si completa in un mese e mezzo circa.

VII. - **Coniglio femmina** *del peso di 1365 gr.* - Innesto sul padiglione auricolare con cultura non recentissima (22 dì).

Fenomeni generali: Non febbre, leggero deperimento fino a discendere nel peso a 1300 gr. circa.

Fatti locali: Dopo 10 giorni si è formato un nodulo grosso come una fava, duro, indolente, ricoperto di cute normale.

Esito ultimo del processo: Stazionario fino al 16° giorno; poi rapida fusione: ulcerazione al 20° giorno con eliminazione di materiale caseoide-bacillare. Malgrado ciò il nodulo persiste.

Durata del processo: Stazionario per circa un mese: quindi si inizia lenta regressione. La scomparsa è compiuta in 56 giorni.

VIII. - **Coniglio maschio** *del peso di 1645 gr.* - Innesto sopra padiglione auricolare con cultura di 30 dì.

Fenomeni generali: Non febbre, non deperimento organico.

Fatti locali: In quindici giorni si forma nodulo grosso come fava, duro, indolente, ricoperto di cute sana.

Esito ultimo del processo: Fra il 15° ed il 25° giorno il nodulo si mantiene stazionario. Poi lentamente regredisce.

Durata del processo: L' infiltrato scompare in 18 giorni.

IX. - **Coniglio femmina** *del peso di 1428 gr.* - Innesto sul padiglione auricolare con cultura di 34 giorni.

Fenomeni generali: Non febbre, non deperimento organico.

Fatti locali: In 15 giorni si forma nodulo grosso come un fagiolo, duro, indolente, ricoperto di cute normale.

Esito ultimo del processo: Fra il 15° ed il 22° giorno circa il processo rimane stazionario, poi si riassorbe lentamente.

Durata del processo: Il riassorbimento è completo dopo 40 giorni.

X. - **Coniglio maschio** *del peso di 1565 gr.* - Si innesta sul padiglione auricolare con cultura vecchia di due mesi.

Fenomeni generali: Non febbre, non deperimento organico.

Fatti locali: In 18 giorni si forma nodulo grosso come un pisello, duro, indolente, ricoperto di cute sana.

Esito ultimo del processo: Fra il 18° ed il 24° giorno il processo si mantiene stazionario, poi lentamente si riassorbe.

Durata del processo: Il riassorbimento si compie in circa 36 giorni.

A questi esperimenti si potrebbero aggiungere pure quelli risultanti dagli innesti compiuti sotto cute degli animali, allo scopo di aumentare la vitalità delle culture; mi basta però ricordare che anche questi corrisposero perfettamente ai precedenti.

Un solo fatto merita di essere ricordato in modo speciale e si è che allorquando sopra un animale di recente guarito da una infezione di bacillo del Boubas, si tenta di compiere un secondo innesto, lo sviluppo del nodulo in questo momento è assai meno evidente che nel primo, ed un terzo innesto talora abortisce completamente. Però all'acquisto di questa resistenza corrisponde, nell'animale, un progressivo deperimento, il quale si inizia e svolge completamente senza che avvenga alcuna localizzazione in organi interni o tanto meno lo sviluppo di forme setticoemiche. Il fatto deve quindi ascriversi al riassorbimento di sostanze tossiche fabbricate in sito dal bacillo stesso.

Iniezione del bacillo del Boubas nel peritoneo dei Conigli.

Coniglio maschio dal peso di gr. 1430. — Si inietta nel sacco peritonale dell'animale una intera siringa di cultura recente stemperata in brodo, (bacillo vitale di 12 giorni).

1° al 11° giorno l'animale non mostra alcuna sofferenza. Si nutre abbondantemente. Non presenta febbre.

12° giorno l'animale si nutre meno: non ha febbre: non si palpano nodi endo-peritoreali. Il peso dell'animale è alquanto diminuito.

13° al 16° giorno — Continua denutrizione progressiva. L'animale si presenta con pelo secco irto, che si stacca con grande facilità, specie al muso ed alle coscie. Non vi è febbre: il peso dell'animale è disceso a 1080 gr.

16° al 28° giorno. L'animale è assai denutrito, debole: si regge assai male sul treno posteriore, senza che esista vera paralisi. Le gambe posteriori presentano pelo scarso, per chiazze

alopeciche sparse, e fra queste esistono molte escoriazioni ricoperte da croste, dovute probabilmente a lesioni traumatiche sopra cute atrofica. Il peso del coniglio è sceso a 960 gr. Nessun nodo si percepisce entro al peritoneo. L' animale si nutre male e presenta un leggero innalzamento termico.

28° *al 40° giorno*. In questo frattempo l'animale continua a deperire ed a nutrirsi assai scarsamente.

Dopo il 40° giorno le condizioni generali accennano a migliorare ma in capo a due mesi è ancora assai magro, ma non si nota più la deforforazione e la caduta dei peli e la formazione di erosioni agli arti posteriori. L' animale però si mostra alopecico a piccole aree, specialmente alla testa ed agli arti posteriori.

L'animale viene ucciso ed all' *esame necroscopico* si osservano: Superficiali lesioni cutanee agli arti posteriori; aree alopeciche sparse; mancanza del grasso sottocutaneo.

Polmone, pleura, normali.

Cuore pallido, flaccido, senza lesioni endo o pericardiche.

Fegato ingrossato, a punti giallo rossi, senza noduli.

Pancreas, normale.

Milza ingrossata, dura, che al taglio lascia fluire scarsissimo materiale della polpa.

Reni, ingrossati, con degenerazione grassa della porzione midollare.

Ghiandole sopra renali ingrossate, bruno-gialle.

Ghiandole linfatiche retro peritonali: alcune di queste sono ipertrofiche.

Intestino, stomaco, normali.

Tentai delle culture del sangue della milza dal fegato e da una ghiandola retro peritonale; ma il risultato rimase negativo

II. — *Coniglio maschio.* — Peso iniziale 1430 gr.

Durata della vita 60 giorni.

Peso terminale 1200 gr. (perdite 230 gr.)

Fenomeni generali. Non febbre, dimagrimento progressivo, caduta dei peli e deforforazioni, formazione di esulterazioni agli arti posteriori.

L'animale viene ucciso.

Alterazioni anatomo-patologiche. — Nulla al punto d'innesto nella cute. Scomparsa del grasso sottocutaneo, piccole erosioni cutanee; polmone e cuore normali, leggero eritema peritoneale; alcune ghiandole retro-peritoneali ingrossate, milza grossa dura non ricca di succo, fegato ingrossato, ghiandole sopra renali ingrossate, rene grosso con degenerazione grassa della sostanza corticale.

III. — *Coniglio maschio.* — *Peso iniziale 1890 gr.*

Durata della vita 75 giorni.

Peso terminale gr. 1380 (perdita 510 gr.)

Fenomeni generali e causa della morte. Non febbre, dimagrimento progressivo, abbondante desquamazione forforacea e perdita dei peli nel terzo posteriore del tronco e formazione di piccole aree alopeciche, lo stesso fatto al capo. Escoriazioni superficiali alle gambe. L'animale muore naturalmente.

Alterazioni anatomo-patologiche. Lesioni epidermiche come sopra, mancanza del pannicolo adiposo sottocutaneo; polmone, pleura, cuore e pericardio normali; peritoneo leggermente arrossato, leggero ingrossamento delle ghiandole retro peritonali senza accenno a caseosi. A partire dalla pendice verniforme l'intestino si presenta ingrossato duro, ispessito per punti quasi nodoso, aspetto della mucosa e sierosa normali all'infuori di leggera iperemia. Milza grossa dura con polpa non fluente ed alcuni punti biancastri, fegato grosso con punti di degenerazione grassa, ghiandole sopra renali leggermente bruno-gialle, reni grossi con degenerazione grassa della sostanza corticale e qualche punticino biancastro sparso. Testicolo destro grosso, con alcuni nodicini bianco grigi.

IV. — *Coniglio femmina. Peso iniziale* 1670 gr.

Durata della vita 94 giorni.

Peso terminale 1140 gr. (perdita 530 gr.)

Fenomeni generali e causa della morte. Non febbre: dimagrimento progressivo, perdita dei peli e deforforazione abbondante sopra tutto il corpo, formazione di piccole aree alopeciche: erosioni epidermiche. L'animale muore marasmatico.

Alterazioni anatomo-patologiche. Lesioni epidermiche come sopra,

scomparsa pannicolo adiposo sottocutaneo; polmone, pleura cuore pericardio normali; peritoneo ispessito ed arrossato; nel grande epiploon si nota nodo come avellana duro pastoso; milza alquanto ingrossata, dura, con qualche punto bianco: fegato leggermente ingrossato. Reni grossi con degenerazione grassa corticale, capsule sopra renali pressochè normali.

V. *Coniglio maschio. Peso iniziale 1590 gr.*

Durata della vita 122 giorni.

Peso terminale 960 gr. (perdita 630 gr.)

Fenomeni generali e causa della morte. Leggero movimento febbrile nei tre primi giorni; dimagrimento progressivo, perdita dei peli nelle parti posteriori del corpo: deforforazione e formazione di piccole erosioni. Peli in totalità hanno perduta la normale lucentezza. L'animale muore marasmatico.

Alterazioni anatomo-patologiche. Lesioni cutanee come sopra; perdita pannicolo adiposo sottocutaneo; normale il cuore, polmone normale; leggero versamento pleurico e pericardico, cuore pallido con segni di generazione grassa; fegato grosso con aree di degenerazioni grassa; milza grossa, dura, con polpa non spappollabile e granuli bianchi sparsi; leggera iperemia peritonale, qualche ghiandola retro peritonale ingrossata; ghiandole sopra renali grosse giallo brune, reni con degenerazione grassa della sostanza corticale.

Iniezioni dirette del bacillo del Boubas nel circolo sanguigno.

Iniettando entro alla vena auricolare di grossi conigli il contenuto di una colonia vitale di bacilli del Boubas, nei primi giorni non si osserva alcun fatto d'importanza: l'animale mangia bene nè si presenta deperito. Solo verso la fine della prima settimana si comincia a notare un dimagrimento lentamente progressivo della durata di circa due mesi. In capo a questo tempo o l' animale muore ovvero si trascina avanti per tre o cinque mesi per poi

terminare colla morte. I conigli presentarono tutti delle alterazioni speciali degli organi interni specialmente della milza, del fegato, delle capsule renali e del rene.

I. — *Coniglio maschio. Peso iniziale 1875 gr.*

Durata della vita 78 giorni.

Peso terminale 1590 gr. (perdita 300 gr. circa).

Fenomeni generali e causa della morte. Non febbre, dimagrimento progressivo, perdita del pelo, abbondante deforforazione. L'animale muore marasmatico.

Alterazioni anatomo-patologiche. Leggero versamento sieroso nella pleura; polmone e cuore normali; fegato grosso con degenerazione grassa, milza ingrossata dura al taglio con piccoli punti biancastri, ghiandole retroperitoneali grosse, peritoneo leggermente iperemico, rene grosso con degenerazione grassa della sostanza corticale, capsule soprarenali grosse brune giallastre.

Retro-culture. Negativa del sangue, così pure dal fegato dalla milza e dall'essudato pleurico.

II. *Coniglio maschio.* Peso iniziale 1690 gr.

Durata della vita 102 giorni.

Peso terminale 1295 gr. (perdite gr. 395)

Fenomeni generali e causa della morte. Dimagrimento progressivo senza febbre, perdita del pelo specialmente agli arti posteriori, deforforazione abbondante, qualche erosione superficiale. L'animale muore marasmatico.

Alterazioni anatomo-patologiche. Leggero versamento sieroso pleurico e pericardico, polmoni normali, cuore in degenerazione grassa, fegato grosso con aree di degenerazione grassa e qualche punto grigio sparso sulla superficie e nel parenchima, milza grossa dura al taglio con piccoli punti biancastri, rene grosso con evidente degenerazione grassa corticale, capsule sopra-renali leggermente ingrossate giallo brune

Retro-culture. Negativa tanto dal sangue che dalla milza, fegato ed essudato pleurico; positiva dalle capsule sopra-renali.

III. *Coniglio maschio.* Peso iniziale 1655 gr.

Durata della vita 118 giorni.

Peso terminale 1200 gr. (perdita gr. 455).

Fenomeni generali e causa della morte. Dimagrimento progressivo senza febbre, perdita del pelo per aree, deforforazione abbondante, formazione di piccole erosioni ed esulcerazioni.

Alterazioni anatomo-patologiche. Polmone e cuore normali, leggera iperemia peritoneale, sul grande epiploon due noduli come pisello bianco grigi, fegato con degenerazione grassa e qualche nodulo bianco-grigio, milza grossa dura con piccoli noduli biancastri, rene con manifesta degenerazione grassa della sostanza corticale, capsule sopra-renali grosse grigio-gialle con piccoli punti biancastri.

Retro-cultura. Sangue, fegato, negativi ; milza, capsule sopra-renali positivi.

Potere aglutinante del sangue.

La ricerca di questa proprietà riesce assai delicata, perchè il bacillo cresce assai difficilmente in mezzi liquidi, non è mobile e si raccoglie sempre in piccole zooglee nelle culture che hanno raggiunto il loro massimo sviluppo.

Per ovviare a questo svantaggio mi sono servito di giovani culture, nelle quali i singoli elementi si trovano staccati ovvero riuniti a due o tre : sopra di questi l'esame ripetuto dimostrò che queste emulsioni vengono leggermente aglutinate dal siero dei conigli i quali hanno subìto l'innesto endo-venoso, ma ciò avviene soltanto allorquando il deperimento dell' animale è assai manifesto. In tal caso i bacilli li ho visti raccogliersi a gruppi di tre a dieci elementi, mai però ho potuto ottenere i classici accumuli che si hanno nella siero-diagnosi del Vidal. Perciò io mi limito a dichiarare che il siero degli animali innestati col bacillo del Boubas, presenta un leggero potere di aglutinazione per i bacilli.

Le conclusioni di questa ultima parte del lavoro sono quindi :

a) che l'innesto sottocutaneo del bacillo non da origine a

fatti generali ma solo locali leggermente irritativi: si comporta cioè in perfetta armonia con quanto si osserva coll'innesto diretto del tessuto Boubatico umano.

b) che l'innesto peritoneale del bacillo in forti dosi non origina mai una infezione acuta generale, ma soltanto una localizzazione del bacillo entro al peritoneo, nella milza, nel fegato etc. e quindi a delle infiamazioni secondarie degli altri organi le quali causano, in un periodo più o meno lungo, la morte dell'animale; dimostra anche che il bacillo non passa nel sangue.

c) che l'*infezione* nell'albero circolatorio non origina alcun fatto generale acuto a tipo settioemico, ma solo delle localizzazioni negli organi interni e lesioni secondarie dei reni, alle quali segue tardivamente la morte dell'animale: che il bacillo non si trova mai nel sangue, mentre invece lo si può riscontrare negli organi interni.

Lesioni cutanee consecutive all'innesto del bacillo del Boubas.

Per tali ricerche mi sono servito di pezzetti di noduli nel periodo iniziale, altri nel periodo ulcerativo ed altri infine nel periodo regressivo.

Nodulo recente. Nel punto centrale, dove arrivò in massa il materiale d'innesto si nota un evidente accumulo di leucociti polinucleati in diverso periodo di degenerazione. Attorno a questo nocciolo centrale si nota uno strato dove gli elementi leucocitari alterati si trovano frammisti a numerosi elementi connettivali, i quali presentano l'aspetto di connettivo fascicolato, edematoso, fra questi si nota pure qualche pezzo di fibra elastica: accanto a queste stanno anche delle cellule connettivali con nucleo allungato e protoplasma reticolato rotondeggiante o stellariforme, protoplasma il quale assume discretamente la pironina, (metodo di Unna). Si notano ancora alcuni residui di collageno disgregato completamente. Segue uno strato nel quale abbondano le fibrille connettivali intersecate da vasi sanguigni abbondanti, dilatati, con

endotelio ispessito, proliferato, a grossi nuclei edematosi: entro ai vasi si nota qualche leucocita polimorfo ed attorno a questi (mai però entro alle pareti) molti elementi disposti a piccoli accumuli in modo da formare dei veri focolai di elementi a nucleo rotondo piuttosto grande con evidenti granuli di cromatina disposti irregolarmente: tali elementi presentano un protoplasma costituito da un endoplasma trasparente, circondato da una sostanza avida di pironina. La forma di questi elementi è per lo più a pera od irregolarmente poliedrica, di rado sono rotondi. La forma e la grandezza li stacca dai linfociti normali per avvicinarli alle plasmazellen-tochter di Unna in modo sorprendente. Fra questi elementi un po' incerti se ne trovano molti altri i quali ricordano completamente le plasmazellen tipiche.

Il processo di solito si arresta profondamente al pericondrio il quale è leggermente ispessito: attorno al nodo il tessuto si presenta ricco di liquido plasmatico e di vasi sanguigni i quali sono tutti pieni di globoli rossi. L'epidermide è ispessita, provvista di zaffi malpighiani approfondantisi irregolarmente; lo strato corneo è leggermente ipercheratosico.

Nodulo vecchio. — In questo caso il processo è limitato. Attorno ad un focolaio centrale, presentante leggero carattere infiammatorio, si nota una capsula di elementi connettivali giovani a tipo di fibroblasti e fra questi si vede qualche raro leucocita polimorfo; non mancano neanche alcuni linfociti. All'interno di questa sottile capsula limitante si trova che il focolaio il quale dapprima era ripieno di leucociti polimorfi, ora non ci presenta che un numero assai limitato di questi e ben pochi mantengono ancora i caratteri normali, i più mostrano evidenti degenerazioni del protoplasma e del nucleo. Fra questi elementi abbondano dei granuli di sostanza avida di pironina, granuli piuttosto grossi di forma irregolare, i quali sembrano derivare dal disfacimento del protoplasma cellulare; fra questi elementi avidamente assorbenti il colore rosso del reattivo di Unna altri ne esistono, però scarsi, i quali invece si tingono col verde di metile. Esiste qualche linfocita con nucleo vescicoloso, altri presentano un protoplasma scarsissimo; quasi eccezione è trovarne qualcuno normale. Questi materiali di disfacimento cellulare assieme agli elementi leucocitari stanno raccolti esclusivamente al centro del nodulo ma fra

questi spiccano degli elementi grossi a tipo epitelioide a protoplasma chiaro ed accanto a questi si notano numerose cellule giganti, derivazione degli elementi plasmatici; di questi infatti si possono seguire tutti i passaggi da elementi mono-nucleati caratteristici, a protoplasma avido di pironina, ad altri elementi contenenti due quattro fino a dieci nuclei e protoplasma abbondantissimo reticolato. Tanto gli elementi epitelioidi quanto le cellule giganti si trovano specialmente numerosi alla periferia del nodulo. In alcuni di questi, a carattere regressivo, il perecondrio non presenta alcuna alterazione; in altri invece si nota una vera pericondrite con necrosi della cartilagine ed in altri infine si vede che al processo infiammatorio partecipa tanto la cartilagine quanto il pericondrio del lato opposto quanto il connettivo di questa parte e l'epidermide, si segue cioè la formazione di focolai infiammatori che colpiscono interamente la sostanza dell'orecchio e terminano colla perforazione.

Organi interni. — Non meno interessanti delle alterazioni cutanee sono quelle che si osservano negli organi interni che io ho raccolti in casi cui l'animale morì spontaneamente oppure venne ucciso dopo iniezioni del bacillo nel peritoneo, ovvero nell'albero circolatorio.

In un caso, in seguito all'iniezione del bacillo entro al peritoneo, alla morte dell'animale si notò un ispessimento della parete intestinale per lungo tratto, con notevole riduzione del lume dell'organo. L'esame microscopico dimostrò l'esistenza di un processo il quale aveva sua sede lungo tutta la parete intestinale ma con speciale elezione entro tutti i follicoli chiusi i quali spiccavano fra il resto del tessuto per accumuli di linfociti in diverso periodo di degenerazione e per la presenza di elementi a tipo epitelioide: in questo tessuto non esistevano cellule giganti e mancavano quasi anche i leucociti polimorfi.

Gli altri organi che presentarono sempre delle alterazioni furono la milza, il fegato, le ghiandole sopra renali ed il rene. Il carattere delle alterazioni renali in molti casi si è quello di una semplice glomerulo-nefrite desquamativa, in altri invece il processo è più progredito ed oltre alla degenerazione epitelliale si nota una neoformazione connettivale più o meno progredita (nefrite interstiziale). In nessun caso ho osservata la formazione di

ascessi di nodi o di infarti. Alle lesioni proprie dell' organo si accompagna una leggera infiltrazione perivasale con degenerazione dell' endotelio.

Negli altri organi tutta l'alterazione primitiva sembra derivi direttamente dai vasi sanguigni, i quali presentano delle vere endo e peri arteriti con degenerazioni endoteliali, depositi di leucociti attorno alla parete, e manicotti di cellule plasmatiche: quì e colà fra questi elementi si trovano delle cellule epitelioidi e qualche cellula gigante, però questa assai più piccola sempre di quelle che si potevano osservare nei noduli cutanei. In alcuni tratti le alterazioni endo e peri vasali terminarono coll' originare dei veri infarti ischemici e relative degenerazioni dei tessuti. Tali lesioni spiccano specialmente nel fegato e nella milza. Nelle ghiandole sopra renali ho riscontrata una notevole iperplasia dei cordoni ed assieme delle piccole emoragie sparse per tutta la sostanza, senza che le lesioni vasali fossero assai spiccate; fra queste lesioni si osservano dei piccoli accumuli di cellule plasmatiche tipiche assieme ad elementi epitelioidi ed a qualche cellula gigante.

Il carattere di queste alterazioni non corrisponde a quelle osservate dal prof. Majocchi e Bosellini a mezzo del bacillo da essi isolato. Le lesioni hanno in questi miei casi sempre un carattere assai cronico, paragonabile forse in parte a quelle prodotte dal bacillo della tubercolosi, lentamente progredienti; le alterazioni organiche sono poi tali che valgono a spiegare completamente la morte dell'animale, dopo un periodo di alcuni mesi di cachessia progressiva.

Confrontando i caratteri culturali del bacillo ottenuto dal prof. Majocchi e dal dott. Bosellini con quelli del bacillo da me isolato trovo che questi non si corrispondono come pure non corrispondono fra questi i caratteri morfologici. Inoltre se noi osserviamo le esigenze vitali dei due bacilli si trova che quelle del Majocchi sono assai scarse mentre assai forti sono in quello da me isolato.

Non volendo però ascrivere eccessiva importanza a delle variazioni le quali potrebbero anche supporsi dovute al diverso periodo di sviluppo del granuloma Boubatico umano e quindi ad attenuazioni o variazioni nella vitalità del bacillo stesso, conviene riflettere che malgrado tutti i tentativi da me fatti sopra i conigli

iniettando grandi quantità di culture sotto cute, nel peritoneo, nei vasi sanguigni, non sono mai riuscito a dar loro alcuno dei caratteri proprî di quello del Majocchi-Bosellini. Inoltre devo quì ricordare che non mi è riuscito neanche di ottenere variazioni nel tipo culturale e nella vitalità del bacillo da me isolato ricorrendo all'artificio di diminuire la resistenza organica degli animali infettati in diversa guisa.

Devo quindi pensare ad una reale e sostanziale differenza fra i due bacilli. È ben vero che il prof. Majocchi potè tentare l'innesto direttamente sopra l'uomo, cosa che io non potei fare, ma conviene pure ricordare che, dato il carattere di virulenza del bacillo iniettato, questo causò delle lesioni acute infiammatorie, malgrado si fosse tentato di diminuirne la vitalità. La conferma assoluta dell'esistenza del vero bacillo boubatico non poteva aversi dal prodursi di fatti tanto acuti e subito repressi con cure antisettiche energiche, ma dall'andamento posteriore, cronico e progressivo del processo, dalla costituzione infine di un vero granuloma boubatico, in tutto simile a quello che si osserva negli infelici reduci dal Brasile.

Nel mio caso a tale mancanza posso opporre una considerazione che non mi sembra privo d'importanza e si è quella di aver potuto ottenere il bacillo da due lesioni diverse ed in diverso periodo di evoluzione da un primo individuo boubatico e da una lesione ulcerosa di un secondo individuo, per modo che sarebbe se non impossibile assai strano però, che lo stesso bacillo, avente caratteri morfologici uguali a quelli del bacillo del granuloma boubatico umano, si trovasse a vivere in due diversi individui colpiti da questa malattia ed entro al tessuto granulomatoso stesso.

Spiegazione delle Tavole

I. — Bacillo del Granuloma boubatico umano.

II. — Bacillo delle culture di Boubas nel tessuto dell'orecchio di un coniglio.

III. — Aspetto del bacillo da giovane-cultura di otto giorni.

IV. — *a)* Aspetto del bacillo da cultura di 25 giorni.
b) Aspetto del bacillo da vecchia cultura di due mesi.

V. — Aspetto della Colonia sopra piastra (ingrandita).

VI. — Aspetto della cultura giovane di 8 giorni.

VII. — Aspetto della cultura dopo 15 giorni.

VIII. — Aspetto della cultura dopo 30 giorni.

IX. — Aspetto della cultura rinforzata dopo alcuni passaggi nel coniglio.

X. — Noduli delle orecchie di un coniglio dopo circa un mese dall'innesto del bacillo del Boubas.

XI. — Diversi aspetti di infiltrati nodulari ulcerati dell'orecchio del coniglio dopo l'innesto del bacillo del Bonbas.

XII. — Aspetto istologico di un nodulo recente dell'orecchio di un coniglio. Piccolo ingrandimento.

XIII. — Aspetto istologico di un nodulo vecchio dell'orecchio di un coniglio. Piccolo ingrandimento.

XIV. — Stesso nodulo che alla tavola XII. Forte ingrandimento. Linfociti e cellule epitelioidi - cellule a tipo di Plasmazellen.

XV. — Stesso nodulo che alla tavola XIII. Forte ingrandimento. Linfociti a cellule epitelioidi. Cellule plasmatiche. Cellule giganti in diverso stadio di sviluppo.